

#2



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen:

102 59 619.0

Anmeldetag:

18. Dezember 2002

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

Anmelder/Inhaber:

metaGen Pharmaceuticals GmbH, 13347 Berlin/DE

Bezeichnung:

Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz
zur Tumorbehandlung

IPC:

A 61 K, A 61 P

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 19. Februar 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

BEST AVAILABLE COPY

Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Tumorbehandlung.

5 Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von TRPM8 modulierenden Substanzen zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen. Die
10 Erfindung betrifft desweiteren solche Zusammensetzungen, sowie einen Behandlungsplan.

Hintergrund der Erfindung und Stand der Technik

15

Folgend werden die Bezeichnungen Trpp8 und TRPM8 synonym verwendet.

Die Kalzium Homeostase regelt wichtige Zellfunktionen, wie
20 Proliferation, Differenzierung, Invasion, Migration, Angiogenese und Apoptose. Bei Prostatakrebs spielt Kalzium eine wichtige Rolle in der Tumorbildung. Es ist jedoch wenig über die Kalziumkanäle und membrangebundenen Plasma Rezeptoren bekannt, die den Eintritt und Austritt von Kal-
25 zium in und aus intrazellulären Kalziumreservoirs in Prostatatumorzellen regeln.

Trpp8 ist in der Literaturstelle Tsavaler et al., Cancer Res, 61:3760-3769 (2001) als Prostata-spezifisches Gen
30 beschrieben worden, welches vorwiegend in humanen Prostatatumoren exprimiert wird. Trpp8 wird signifikant hochreguliert. In Androgen-abhängigen Prostata Zelllinien wird gemäß dieser Literaturstelle Trpp8 gefunden, nicht jedoch

in Androgen-unabhängigen Zelllinien, welche auch nicht PAP (prostate acid phosphatase) und PSA (prostate specific antigen) exprimieren. Es wird vermutet, daß Trpp8 als Kalzium Kanal Protein funktioniert.

5

Trp Proteine sollen zu den sogenannten store operated calcium channels (SOC) bzw. capacitative calcium entry channels (CCE) gehören. In LNCaP Zellen konnte eine Involvierung in der Apoptose gezeigt werden (Wertz et. al., J Biol Chem, 275:11470-11477 (2000)).

Die 5694 bp Trpp8 cDNA hat einen 3312 bp offenen Leserahmen, welcher für ein 1104 Aminosäuren Protein mit angeblich sieben transmembranen Domänen codiert mit einem Molekulargewicht von ca. 127.500 Da.

Trpp8 Sequenzen sind in den Literaturstellen US-6,194,152, US-6,183,968, WO-99/46374, WO-99/09166, WO-01/25273, WO-01/25272, WO-01/34802, WO-01/46258, WO-01/42467 und WO-01/1633 beschrieben. Die Literaturstellen US-6,194,152 und WO-01/51633 offenbaren die Verwendung der darin genannten Sequenzen zur Detektion von Tumorzellen sowie verschiedener Substanzklassen in allgemeiner Weise zur Behandlung von Prostatakrebs.

25

Menthol ist ein sekundärer Pflanzen stoff, der natürlicherweise als Monoterpen in der Pfefferminze vorkommt und den Hauptbestandteil des Pfefferminzöls ausmacht. Menthol induziert Kälteempfinden auf der Haut sowie in Mund und Nase durch Anregung bestimmter Nervenzellen. Eine weitere, ein Kälteempfinden auslösende Substanz ist Icilin. Beide Substanzen aktivieren periphere Nervenzellen, wobei der Ionenkanal TRPM8 selektiv aktiviert wird und Ionen, wie

Ca²⁺ und Na⁺ in die Zelle einfließen können. Aus den Literaturstellen McKemy et al., Nature 416(6876):52-52 (2002) und Peier et al., Cell 108(5):705-715 (2002) ist es bekannt, dass das human-orthologe TRPM8 in Mäusen und Ratten als Mentholsensor funktioniert. Gleiches ist für Icilin bekannt. Ferner fungiert TRPM8 als Kälterezeptor in einem Temperaturbereich von 8 °C bis 25 °C.

Eine physiologische Funktion von TRPM8 in Tumorgewebe ist unbekannt.

Insbesondere Prostatakrebs ist eine mit zunehmendem Alter mit beachtlicher Inzidenz auftretende Erkrankung. Bislang wird Prostatakrebs im wesentlichen pathologisch diagnostiziert und meist durch Entfernung der Prostata behandelt. Die Entfernung der Prostata hat verschiedene nachteilige Effekte auf einen Patienten. Eine verbesserte Diagnose und Behandlung dieser Krebsart, insbesondere ohne das Erfordernis einer Entfernung der Prostata, ist daher in hohem Maße wünschenswert.

25 Technisches Problem der Erfindung

Der Erfindung liegt das technische Problem zugrunde, pharmazeutische Zusammensetzungen zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere Prostatakrebs-Erkrankungen, anzugeben.

Grundzüge der Erfindung sowie bevorzugte Ausführungsbeispiele.

Zur Lösung dieses technischen Problems lehrt die Erfindung
5 die Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere von Prostatakrebs, in welchen TRPM8 überexprimiert ist.

10 Die Erkenntnis beruht auf der überraschenden Erkenntnis, dass in Tumoren, die eine erhöhte Expression des Ionenkanals TRPM8 aufweisen, die Aktivierung des TRPM8 das Tumorstadium inhibiert bzw. verlangsamt. Insbesondere eine
15 permanente Aktivierung destabilisiert spezifisch den Ionenhaushalt der Tumorzellen, welche dadurch in die Apoptose getrieben werden.

Bevorzugt eingesetzt wird eine Substanz, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus "Menthol, Menthyl-
20 te, Pyrrolidinylderivate des Furanon, Icilin, Icilin-Derivate und Mischungen dieser Substanzen". Der Begriff Menthol umfaßt alle Enantiomere sowie Mischungen der Enantiomere. Entsprechendes gilt für andere genannte Substanzen bzw. Substanzklassen mit Symmetriezentren. Desweiteren
25 können auch strukturell von den vorstehenden Substanzen verschiedene Substanzen verwendet werden, wobei als wesentliches Auswahlkriterium die Aktivierung von TRPM8 anzusehen ist. Beispiel für eine solche verschiedene Substanz ist 2-Isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramid.

30

Menthyl-derivate können insbesondere gemäß Formel I aufgebaut sein, wobei ... eine Einfach- oder Doppelbindung sein kann, wobei ... eine Einfachbindung oder keine Bindung

sein kann, wobei nicht dargestellte Valenzen des Kohlenstoffs mit -H abgesättigt sind, wobei R1 = -H, -OH, -SH, -NR11R12, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl oder -Aryl, beispielsweise Methyl oder Ethyl, wobei R11 und R12 gleich oder verschieden und -H, C1 bis C10-Alkyl, -Aralkyl oder -Aryl sein können, wobei R2 = -OR21, -SR21, -CO-R22, oder -O-CO-R23 sein kann, wobei R21 = -H, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht, einfach oder mehrfach substituiert, insbesondere -OH oder -SH substituiert, sein kann, wobei R22 = -H, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht, einfach oder mehrfach substituiert, insbesondere -OH oder -SH substituiert, oder -NR221R222 sein kann, wobei R221 und R222 gleich oder verschieden und -H, C1 bis C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, sein können, wobei R23 = -H, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht, einfach oder mehrfach substituiert, insbesondere -OH oder -SH substituiert, sein kann. Beispiele für Menthylderivate sind. Isopulegol (... = Doppelbindung, ... = keine Bindung, R2 = -OH), Menthoxypropan-1,2-diol (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = -O-CH2-CHOH-CH2-CH2OH), N-Ethyl-p-menthan-3-carboxamid (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = -CO-NH-CH2-CH3) und p-Menthan-3,8-diol (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -OH, R2 = -OH). Weitere Beispiele sind 3-Menthyl-3,6-dioxaheptanoat, 3-Menthylmethoxyacetat, 3-Menthyl-3,6,9-trioxadecanoat, 3-Menthyl(2-hydroxyethoxy)acetat und Menthyl-11-hydroxy-3,6,9-trioxaundecanoat (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht oder

-OH substituiert). Ein weiteres Beispiel ist Menthylactat (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = -O-CO-R23 und R23 = Hydroxyethyl).

- 5 Pyrrolidinylderivate des Furanon können insbesondere gemäß Formel II aufgebaut sein, wobei R1 und R2 zumindest einfach vorliegen, wobei die Bindung von R1 und R2 an jeder freien Kohlenstoffvalenz des Furanonringes erfolgen kann, wobei freie Kohlenstoffvalenzen durch Wasserstoff
- 10 abgesättigt sind, wobei R1 Pyrrolidin, nicht, einfach oder mehrfach substituiert sein kann, insbesondere durch C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, Aryl, -OH, -NH2, wobei Pyrrolidin vorzugsweise über N an den Furanonring gebunden ist, wobei R2 = C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, -OH, -NH2 sein kann,
- 15 und wobei vorzugsweise R2 einfach oder zweifach vorliegt und wobei R1 vorzugsweise einfach vorliegt. Beispiele sind: 5-Methyl-4-(1-pyrrolidinyl)-3-[2H]-furanon, 4,5-Dimethyl-3-(1-pyrrolidinyl)-2-[5H]-furanon, 4-Methyl-3-(1-pyrrolidinyl)-2-[5H]-furanon.
- 20 Icilin ist in Formel III dargestellt. Mit umfaßt sind auch Icilin-Derivate, welche TRPM8 aktivieren. Dies läßt sich gemäß der Ausführungsbeispiele unschwer testen.

- 25 Allen genannten Stoffen gemeinsam ist, dass sie Kälteempfinden bei Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten auflösen.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann mit üblichen Hilfs- und Trägerstoffen in fachüblicher Weise

30 se galenisch hergerichtet werden, vorzugsweise zur Injektion, i.v., i.p. oder i.m., oder Infusion. Die Dosis liegt vorzugsweise im Bereich von 0,1 bis 5000 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 1 bis 100 mg/kg Körpergewicht, bezogen

auf einen Tag, eingestellt ist, aufteilbar in 1 bis 10 Gabeeinheiten. Es ist zweckmäßig, die Zusammensetzung zur kontinuierlichen oder diskontinuierlich periodischen Gabe über einen Zeitraum von zumindest 2 Wochen, vorzugsweise 5 zumindest 8 Wochen, höchstvorzugsweise zumindest 20 Wochen, herzurichten. Hiermit verbunden ist ein Behandlungsplan, welcher die andauernde Gabe in diesen Zeiträumen vorsieht. Eine diskontinuierliche periodische Gabe erfolgt dadurch, dass in definierten Zeitperioden einmalige Gabe 10 erfolgen. Die Zeiträume können beispielsweise im Bereich von 1 Stunde bis 7 Tage liegen. Eine kontinuierliche Gabe erfolgt mit geeigneten Systemen, welche eine kontinuierlich Freisetzung der Substanz bewirken. In Frage kommen beispielsweise an bzw. in polymere Mikropartikel adsorbierte 15 therapeutische Substanzen, wobei die Substanzen langsam aus den injizierten Mikropartikeln freigegeben werden. Solche Systeme sind in umfangreichen Varianten dem Durchschnittsfachmann bekannt. Zu den kontinuierlich Wirkstoffe abgebenden Systemen gehören auch transdermale Systeme, 20 welche dem Durchschnittsfachmann ebenfalls in umfangreichen Varianten bekannt sind.

Die Erfindung lehrt schließlich auch ein Verfahren zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere Prostatakrebs, wobei einem erkrankten Patienten eine physiologisch 25 wirksame Dosis einer TRPM8 hemmenden Substanz, dargereicht wird.

Im Rahmen der Erfindung ist es möglich, die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen in Verbindung mit 30 lokaler Hypothermie einzusetzen, wobei die zu behandelnden Gewebe vorzugsweise auf eine Temperatur unterhalb 36 °C, insbesondere unterhalb 30 °C, vorzugsweise unterhalb 25 °C,

gekühlt werden. Die Hypothermie kann kontinuierlich oder diskontinuierlich erfolgen. Im Falle der diskontinuierlichen Hypothermie kann diese vor während und/oder nach der Gabe der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung erfolgen.

Definitionen.

- 10 Im Rahmen dieser Beschreibung wird die Bezeichnung TRPM8 für alle humanen Isoformen, bekannt oder neu, auf Aminosäurenbasis, verwendet. Im Rahmen dieser Beschreibung wird TRPM8 auch Trpp8 genannt. Insbesondere sind die durch die in den Sequenzprotokollen offenbarten Nukleinsäuren
- 15 codierten Proteine und Peptide sowie die in den Sequenzprotokollen offenbarten Proteine bzw. Peptide umfaßt, ebenso wie die in den angegebenen Literaturstellen offenbarten TRPM8 Sequenzen bzw. die dadurch codierten Proteine oder Peptide. Mit diesem Begriff mit umfaßt sind auch die
- 20 im Rahmen dieser Beschreibung offenbarten kurzen Sequenzen, welche aus den Isoformen stammen, beispielsweise Immunisierungssequenzen. Weiterhin mit umfaßt sind auch Homologe, wobei die Homologie zumindest 80%, vorzugsweise mehr als 90%, höchstvorzugsweise mehr als 95%, beträgt,
- 25 und zwar berechnet gemäß dem Programm BLAST in der am Anmeldetag aktuellen Fassung. Weiterhin sind Sequenzen umfaßt, welche lediglich Teilsequenzen der explizit offenbarten Sequenzen, beispielsweise ein Exon oder mehrere Exons, oder komplementärer Sequenzen hierzu darstellen,
- 30 mit der Maßgabe, daß diese mit zumindest gleicher Affinität an ein protein- oder peptidspezifisches Zielmolekül, insbesondere die erfindungsgemäß verwendeten Substanzen, binden.

Im Zusammenhang mit erfindungsgemäßen Verwendungen umfassen die Begriffe der Proteine bzw. Peptide neben den Volllängen der offenbarten Sequenzen (siehe auch vorstehender Absatz) auch Teilsequenzen hieraus, und zwar mit einer Mindestlänge von 4 Aminosäuren, vorzugsweise 10 bis 30 Aminosäuren.

Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die Prophylaxe.

10

Eine Tumorzelle überexprimiert TRPM8, wenn die Menge gebildeter TRPM8 RNA oder gebildeten TRPM8 Proteins in einer Tumorzelle höher ist als in Normalzellen gleichen Gewebetyps; vorzugsweise vom gleichen Patienten herrührend. Es versteht sich, dass für den Vergleich Tumor/Normal die gleichen Messverfahren verwendet werden. Dem Fachmann sind verschiedene Messverfahren zur Bestimmung von Nukleinsäuren und/oder Proteinen bzw. Peptiden in Zellen bekannt, welche alle anwendbar sind.

20

Als Aktivator ist eine Verbindung oder Substanz bezeichnet, welche entweder die Bildung von TRPM8 fördert oder die Aktivität von gebildetem TRPM8 erhöht, bezogen auf die TRPM8 Aktivität in Abwesenheit des Aktivators. Insofern

25 kann ein Aktivator einerseits eine Substanz sein, welche in der Entstehungskaskade von TRPM8 aktivierend eingreift.

Auf der anderen Seite kann ein Aktivator eine Substanz sein, welche mit gebildetem TRPM8 eine Bindung eingeht, und zwar dergestalt, dass weitere physiologische Wechselwirkungen mit endogenen Substanzen erhöht sind, verglichen mit den gleichen Wechselwirkungen, jedoch ohne Bindung des Aktivators. Ein Aktivator erhöht vorzugsweise bei Kontakt mit TRPM8 exprimierenden Zellen erhöht den Transport von

Ionen in eine Zelle hinein oder daraus heraus gegenüber einer Zelle mit gleichem TRPM8 Expressionsniveau, jedoch ohne Kontaktierung mit den Aktivator. Der Ionentransport läßt sich beispielsweise gemäß der Literaturstelle Peier 5 et al., Cell 108(5):705-715 (2002) bestimmen.

Die galenische Herrichtung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung kann in fachüblicher Weise erfolgen. Als Gegenionen für ionische Verbindungen kommen 10 beispielsweise Na^+ , K^+ , Li^+ oder Cyclohexylammonium infrage. Geeignete feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Dragees, Tabletten, (Mikro-) Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder injizierbare Lösun- 15 gen (i.v., i.p., i.m.) sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden. Als 20 Hilfsstoffe sei Magnesiumcarbonat, Titandioxyd, Lactose, Mannit und andere Zucker, Talcum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Zellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl, Polyethylenglycole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, beispielsweise Glycerin, genannt. Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist dadurch herstellbar, dass 25 mindestens ein erfindungsgemäß verwendeter TRPM8 Aktivator in definierter Dosis mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und ggf. weiteren 30 geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen mit definierter Dosis gemischt und zu der gewünschten Darreichungsform hergerichtet ist.

Im Rahmen der vorstehenden Definition gegenüber dem engen Wortsinn erweiterte Begriffsbestimmungen umfassen auch die bestimmten Begriffe im engen Wortsinn. Ausführungen zu einer Anspruchskategorie sowie zu einem selbstständigen Anspruch abhängige Ansprüche gelten entsprechend auch für Ansprüche anderer Kategorie.

10 Ausführungsbeispiele:

Beispiel 1: Verringerung der Koloniebildungsrate.

HEK293 Zellen wurden nicht transfiziert, mit TRPM8 trans-
fiziert oder mit einem Leervektor transfiziert. Die Zellen wurden in einem Soft Agar Assay (siehe Literaturstelle Shappel et al., Cancer Research 61:497-503 (2001)) eingesetzt. Die stark vereinzelt ausplattierten und im Agar immobilisierten Zellen wachsen dabei dreidimensional und substratunabhängig. Die Koloniebildungsrate erlaubt Rückschlüsse auf die Tumorgenität der Zellen. Je 1000 Zellen wurden in der 6-Lochplatte in 2 ml Softagar-haltigem Medium ausplattiert und nach Erstarren des Agars mit 1 ml Medium (DMEM mit 10% FKS, 2mM Glutamin) überschichtet. Menthol, gelöst in Ethanol, wurde dem Medium in Endkonzentrationen von 10, 100 und 1000 μM zugegeben und jeden fünften Tag substituiert. Als Kontrolle wurde lediglich das Lösungsmittel zugegeben. Nach drei Wochen wurden die Anzahl der gebildeten Kolonien unter dem Mikroskop bestimmt. Die TRPM8 transfizierten Zellen zeigen deutlich geringere Koloniebildung als die Wildtyp Zellen und die mit dem Leervektor transfizierten Zellen.

Beispiel 2: Tumorwachstum in Nacktmäusen.

Humane TRPM8 cDNA wurde in den Expressionsvektor pcDNA3.1 subkloniert und anschließend stabil in HEK293 Zellen transfiziert. Die Expression von TRPM8 Protein wurde im Western-Blot mit TRPM8-spezifischen Antikörpern nachgewiesen. Für die Untersuchung der Wirkung von Menthol oder Icilin auf das Tumorwachstum in vivo wurden je 2 Millionen HEK293-TRPM8 Zellen in männliche Nacktmäuse subkutan injiziert oder in der Prostata xenotransplantiert. Die Versuchsgruppen bestanden aus jeweils 10 Tieren. Die Kontrollgruppen wurden nicht bzw. nur mit DMSO behandelt. Behandelt wurden die Tiere durch tägliche intraperitoneale Applikation von 30 mg/kg Körpergewicht Icilin oder Menthol, gelöst in DMSO, über einen Zeitraum von drei Wochen. Das Wachstum der subkutan injizierten Zellen wurde über die gesamte Versuchsdauer zweimal wöchentlich vermessen. Unmittelbar nach Beendigung der Versuche wurden die Xenotransplantate resektiert, gewogen und asserviert. Im Ergebnis zeigten die behandelten Tiere ein deutlich geringeres Tumorwachstum als die nicht behandelten Kontrolltiere.

25 Beispiel 3: TRPM8 Sequenzen

In den Sequenzprotokollen sind TRPM8 Sequenzen, insbesondere Splice Varianten angegeben. Im Falle der Nukleinsäuresequenzen kodieren diese für Proteine, Peptide oder Teilsequenzen von Proteinen oder Peptiden, die im Rahmen der Erfindung aktivierbar sind. Im Falle der Aminosäuresequenzen handelt es sich um im Rahmen der Erfindung aktivierbare Proteine, Peptide oder Teilsequenzen von

Proteinen oder Peptiden. Weitere Sequenzen für TRPM8 sind
der eingangs genannten Literatur zu entnehmen.

5

10

15

20

25

30

Patentansprüche:

1. Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, in welchen TRPM8 überexprimiert ist.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Tumorerkrankung Prostatakrebs ist.
3. Verwendung einer Substanz, vorzugsweise nach Anspruch 1 oder 2, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus "Menthol, Menthylderivate, Pyrrolidinylderivate des Furanon, Icilin, Icilin-Derivate und Mischungen dieser Substanzen" zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere zur Behandlung von Prostatakrebs.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Substanz oder die Mischung solcher Substanzen mit üblichen Hilfs- und Trägerstoffen galenisch hergerichtet wird.
5. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen enthaltend eine TRPM8 aktivierende Substanz und/oder eine Substanz, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus "Menthol, Menthylderivate, Pyrrolidinylderivate des Furanon, Icilin,

Icilin-Derivate und Mischungen dieser Substanzen", sowie übliche Hilfs- und Trägerstoffe, vorzugsweise galenisch zur Injektion, i.v., i.p. oder i.m., oder Infusion hergerichtet.

5

6. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5, wobei die Dosis im Bereich von 0,1 bis 1000 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 1 bis 100 mg/kg Körpergewicht, bezogen auf einen Tag, eingestellt ist, aufteilbar in 1 bis 10 Gabeeinheiten.

10

~~7. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 6,~~

- 15 wobei die Zusammensetzung zur kontinuierlichen oder diskontinuierlich periodischen Gabe über einen Zeitraum von zumindest 2 Wochen, vorzugsweise zumindest 8 Wochen, hergerichtet ist.

20

8. Verfahren zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere Prostatakrebs, wobei einem erkrankten Patienten eine physiologisch wirksame Dosis einer TRPM8 hemmenden Substanz, insbesondere eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dargereicht wird.

25

30

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, in welchen TRPM8 überexprimiert ist.

10

15

20

25

30

Formel I

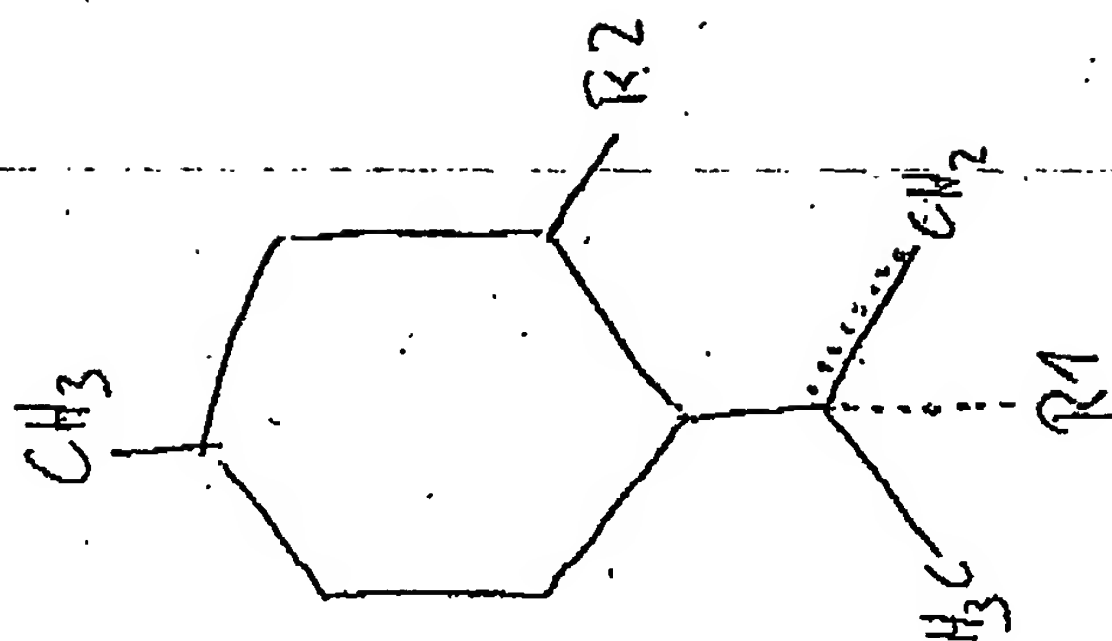


Fig. 1

Formel II

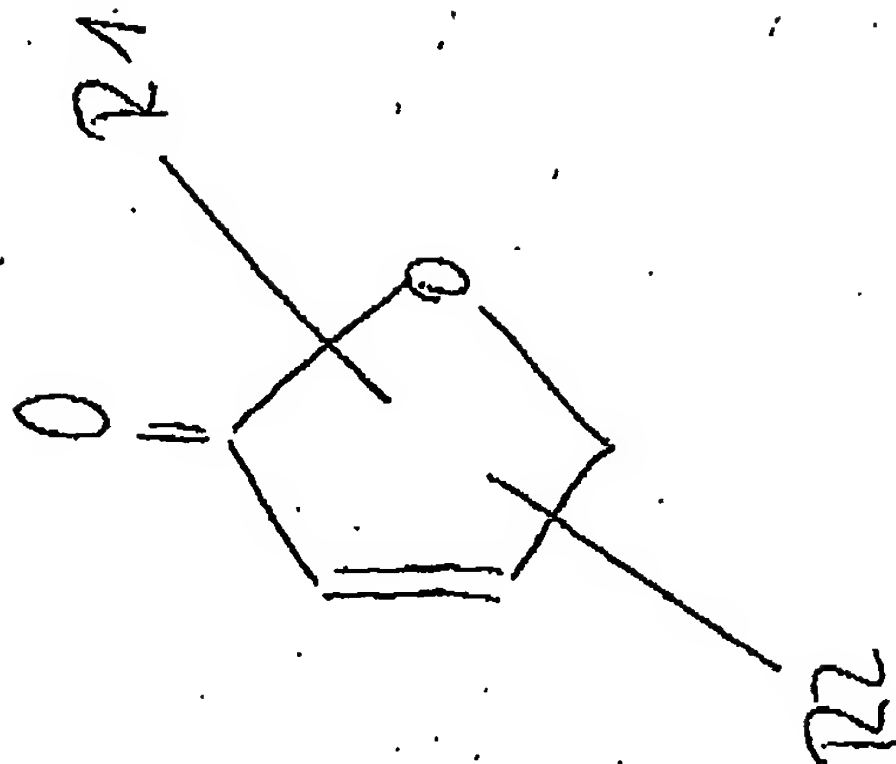


Fig. 2

Formel III

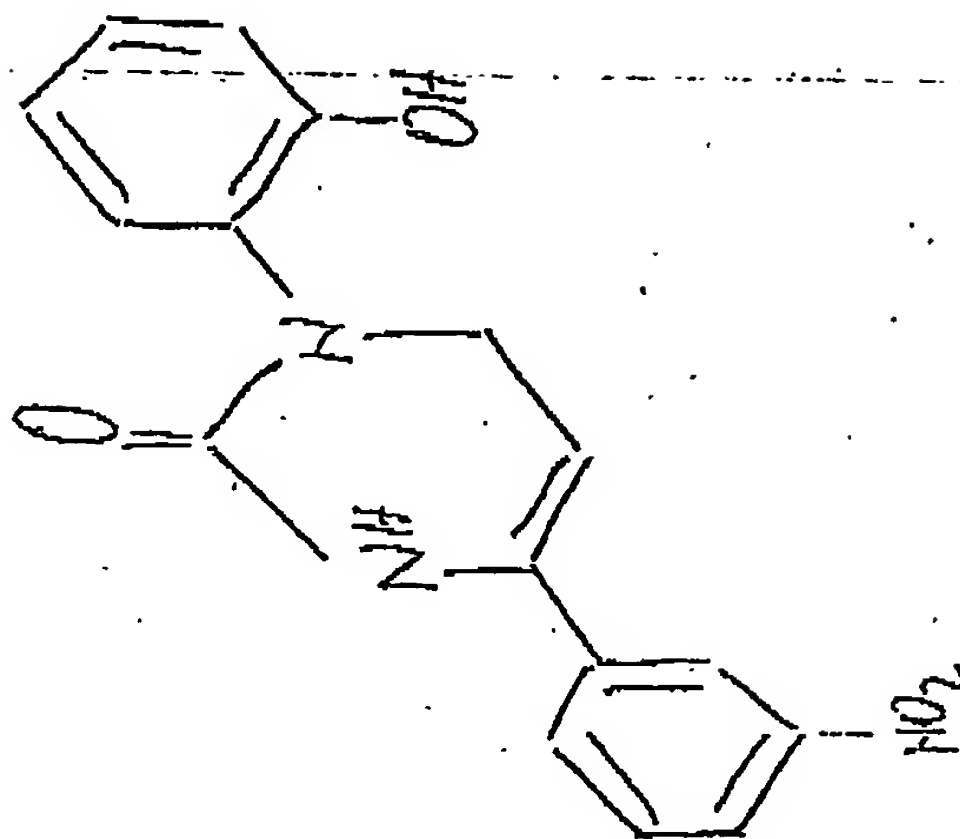


Fig. 3

SEQUENCE LISTING

<110> metaGen Pharmaceuticals GmbH
<120> Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Tumorbehandlung
<130> MET/DE/0227
<160> 17
<170> PatentIn version 3.1

<210> 1
<211> 1000
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 1
atccttggtt gaaagaaaat cctgcttgac aaaaaccgtc acttaggaaa agatgtcctt 60
tcgggcagcc aggttcagca tgaggaacag aaggaatgac actctggaca gcacccggac 120
cctgtactcc agcgcgtctc ggagcacaga cttgtcttac agtgaaagcg acttggtgaa 180
ttttattcaa gcaaatttta agaaacgaga atgtgtcttc ttaccaaaag attccaaggc 240
cacggagaat gtgtgcaagt gtggctatgc ccagagccag cacatggaag gcacccagat 300
caaccaaggt gagaaatgga actacaagaa acacaccaag gaatttcta ccgacgcctt 360
tggggatatt cagtctgaga cactggggaa gaaaggggaag tatatacgtc tgccttgcga 420
cacggacgcg gaaatccttt acgagctgct gaccacgac tggcacctga aaacacccaa 480
cctggtcatt tctgtgaccg gggggcgcga gaacttcgcc ctgaagccgc gcattgcgca 540
gatcttcagc cggctcatct acatgcgcga gtccaaaggt gcttggattc tcacggggagg 600
caccattat ggcctgatga agtacctcgg ggaggtggtg agagataaca ccattcagcag 660
gagttcagag gagaatattg tggccattgg catagcagct tggggcatgg tctccaaccg 720
ggacaccctc atcaggaatt gcgatgctga ggtaccggtg ggacaggagg aggtctgcta 780
ggtcacatgg aagaaagacc atggcatggg cctgtggcct gaaccctggg gctctgtgat 840
ggagccagcc agatcatggg gaagtctgcc ttccaaggag tgcccttggg accttaaagg 900
aattgaaaac aaggatgacg tacctaatta actgctggga aagagttaac aatgaatgtt 960
ttgttcatta aaatgtgttc tcagcaaaaa aaaaaaaaaa 1000

<210> 2
<211> 391
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 2
gccgactact actacctact actactaaat tcacggcccg tcgactgaag acttggcaga 60

```

acagctgctg gtctattcct gtgaagcttg ggggtggaagc aactgtcttg agctggcggg 120
ggaggccaca gaccagcatt tcatcgccca gcttgggggc cagaattttc tttctaagca 180
atgggtatgga gagatttccc gagacaccaa gaactggaag attatcctgt gtctgtttat 240
tatacccttg gtgggctgtg gctttgtatc atttaggtac aaaccaaggc acataatcgt 300
gtgtgagtgt gtgtgccagt gtgtgtacat gcatccacat atgtgtgctc tcatgtaaak 360
gattaaaaag cctgggaactt aaaaaaaaaa a 391

```

<210> 3

<211> 2136

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

```

ggactacatt attttcactc taagattgat ccacattttt actgtaagca gaaacttagg 60
agccaagatt ataatgctgc agaggatgct gatcgatgtg ttcttcttcc tgttctctct 120
tgcgggtgtg atgggtggct ttgcgtggcc aggcaaggga tccttaggea gaatgagcag 180
cgctggaggt ggatattccg ttccgtcacc tacgagccct acctggccat gttcggccag 240
gtgcccagtg acgtggatgg taagcctgac ttggctcaga tggaaacagc ttggaggagg 300
catttgctcc ctgaaccaac ccccagggtc gccccggaga ccgcacttca gaagcacgag 360
cgtgaaacgg agtccaacat aacagagtac cactgatgac ttgcccact gcaccttacc 420
tgggaatgag tccaagccta ctgtgtgtg agctggatga gcacaacctg ccccggttcc 480
ccgagtggat caccatcccc ctggtgtgca tctacatgtt atccaccaac atcctgctgg 540
tcaacctgct ggtcgccatg tttggctaca cggtgggcac cgtccagaga acaatgacca 600
ggctctggaag ttccagaggt acttcctggg gcaggagtac tgcagccgcc tcaatatccc 660
cttccccttc atcgtcttcg ctacttctca catgggtggg aagaagtgtc tcaagtgttg 720
ctgcaaggag aaaaacatgg agtcttctgt ctgctgtttc aaaaatgaag acaatgagac 780
tctggcatgg gagggtgtca tgaaggaaaa ctacctgtc aagatcaaca caaagccaa 840
cgacacctca gaggaatga ggcacgatt tagacaactg gatacaaagc ttaatgatct 900
caagggtctt ctgaaagaga ttgctaataa aatcaaataa aactgtatga actctaattg 960
agaaaaatct aattatagca agatcatatt aaggaatgct gatgaacaat ttgctatcg 1020
actactaat gagagatttt cagacccttg ggtacatggt ggatgatttt aaatcaccct 1080
agtgtgctga gaccttgaga ataaagtgtg tgattgggtt catacttgaa gacggatata 1140

```

```

aaggaagaat atttccttta tgtgtttctc cagaatggg cctgtttctc tctgtgtctc 1200
aatgcctggg actggagggt gatagtttaa gtgtgttctt accgcctcct ttttccttta 1260
atcttatttt tgatgaacac atatatagga gaacatctat cctatgaata agaacctggg 1320
catgctttac tccgtgattg ttattttgtt catttccaat tgattctcta cttttccctt 1380
ttttgtatta tgtgactaat tagttggcat attgttaaaa gtctctcaaa ttaggccaga 1440
ttctaaaaca tgcgcagca agaggacccc gctctcttca ggaaaagtgt ttccatttct 1500
caggatgctt cttacctgct agaggagggt acaaggcagt ctcttgetct cttggactca 1560
ccaggctcct attgaaggaa ccaccccat tctaaatat gtgaaaagtc gcccaaatg 1620
caaccttgaa aggcactact gactttgttc ttattggata ctctcttat ttattatttt 1680
tccattaaaa ataatagctg gctattatag aaatttagac catacagaga tctagaaaga 1740
acataaattg tccccattac ctttaaggtaa tcaactgctaa caatttctgg atggtttttc 1800
aagtctattt ttttctatg tatgtctcaa ttctctttca aaattttaca gaatgttato 1860
atactacata tatacttttt atgtaagctt tttcacttag tattttatca aatagtttt 1920
tattatattc atagccttct taaacattat atcaataatt gcataatagg caacctctag 1980
cgattaccat aattttgctc attgaaggct atctccagtt gatcattggg atgagcatct 2040
ttgtgcatga atcctattgc tgtatttggg aaaattttcc aaggtttagat tccaataaat 2100
atctatttat tattcaatat taaaaaaaaa aaaaaa 2136

```

```

<210> 4
<211> 1813
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 4

```

```

gctagaattt accagtaagc catctgattt cccagtaagc caccctgggc ttttctttgt 60
tgaaaagcttt ttgattgctg attttcattt ttttcatttg ttgtttgtct gttcaggctt 120
tgtatttctt cttgattcag gtctttgtaa gttgtacatt tctgggatat ttccatttct 180
tctaggttgt ccaccttggt tgcataaat tgttcatact agcccttct gatcccttct 240
atttctatgc cctctgttgt aaggttgtct ttctcatttc tgactgtatt tatttgtatc 300
ttcttccttt tcttaaaagg ttgtttgatt ttgtttatct tttcaaaaaa ccaactctta 360
ctttcaatga ttttttttcc cattgttttt caactctctt ttttaaaaat gtattttgct 420

```


cttggagttt ttgctctact ttaaacagct tactaaagtc attttactat taacaaatac	480
aaggctcttt caaaagctcc tatagggaat aaaaaatttc cccatctcct tataccagaa	540
aacaaagtta ttacaattc atcttaagtc tcttaatgat ctcaagggtc ttctgaaaga	600
gattgctaataaaaatcaaataaaactgtatgaactctaataggagaaaaatctaattatag	660
caagatcata ttaagggaatg ctgatgaaca attttgctat cgactactaa atgagagatt	720
ttcagacccc tgggtacatg gtggatgatt ttaaatcacc ctagtgtgct gagaccttga	780
gaataaagtg tgtgatttgt ttcatacttg aagacggata taaaggaaga atatttcctt	840
tatgtgtttc tccagaatgg tgcctgttcc tctctgtgct tcaatgcctg ggactggagg	900
ttgatagttt aagtgtgttc ttaccgcctc ctttttcctt taatcttatt ttgatgaac	960
acatatatag gagaacatct atcctatgaa taagaacctg gtcatgcttt actcctgtat	1020
tgttattttg ttcattttcca attgattctc tacttttccc ttttttgtat tatgtgacta	1080
attagttggc atattgttaa aagtctctca aattaggcca gattctaaaa catgctgcag	1140
caagaggacc ccgctctctt caggaaaagt gttttcattt ctcaggatgc ttcttacctg	1200
tcagaggagg tgacaaggca gtctcttgcct ctcttggact caccaggctc ctattgaagg	1260
aaccaccccc attcctaaat atgtgaaaag tcgcccacaaa tgcaaccttg aaaggcacta	1320
ctgactttgt tcttattgga tactcctctt atttattatt ttccattaa aaataatagc	1380
tggctattat agaaatttag accatacaga gatgtagaad gaacataaat tgtccccatt	1440
accttaaggt aatcactgct aacaatttct ggatggtttt tcaagtctat ttttttcta	1500
tgtatgtctc aattctcttt caaaatttta cagaatgtta tcatactaca tatatacttt	1560
ttatgtaage tttttcactt agtattttat caaatatgtt tttattatat tcatagcctt	1620
cttaaacatt atatcaataa ttgcataata ggcaacctct agegattacc ataattttgc	1680
tcattgaagg ctatctccag ttgatcattg ggatgagcat ctttgtgcat gaatcctatt	1740
gctgtatttg ggaaaatttt ccaagggttag attccaataa atatctattt attattcaat	1800
attaaaaaaaa aaa	1813

<210> 5

<211> 986

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

acctggctaa tttttgtatt tttagtagac acgggggttc accatgttgg ccaggctggc 60

ctcgaactcc tgacctcagg tgatttgcct gctcggcct cccaagtgtt gggattacag	120
gcgtgaacca ccgtgtccgg cctcaggttt tcttaattgc agagcttagt gtggtatact	180
ttctgaaggt atctaacagg gaataggggc aaacaaatag ctgcatgctc ctgtcatagt	240
ccaccagcta tgatctgctt aaaacagctg cctgctggtc gccatgtttg gctacacggc	300
gggcaccgtc caggagaaca atgaccaggt ctggaagttc cagaggtact tcttggtgca	360
ggagtactgc agccgcctca atatccctt ccccttcctc gtcttcgctt acttctacat	420
ggtggtgaag aagtgttca agtgttgcct caaggagaaa aacatggagt cttctgtctg	480
ctgtttcaaa aatgaagaca atgagactct ggcattggag ggtgtcatga aagaaaacta	540
ccttgtcaag atcaacacaa aaaccaacga cacctcagag gaaatgaggc atcgatttag	600
acaactggat acaaagatca tattaaggaa tgctgatgaa caattttgct atcgactact	660
aaatgagaga ttttcagacc cctgggtaca tgggtggatga ttttaaatca cctagtgtg	720
ctgagacctt gagaataaag tgtgtgattg gtttcatact tgaagacgga tataaaggaa	780
gaatatctcc tttatgtgtt tctccagaat ggtgctgtt tctctctgtg tctcaatgcc	840
tgggactgga ggttgatagt ttaagtgtgt tcttaccgcc cctttttccc tttaatctta	900
tttttgatga acacatatat aggagaacat ctatctatg aataagaacc tgggtcatgct	960
ttaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa	986

<210> 6
 <211> 929
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 6

ggcaogagggc tgcctttctc caccagagac tcttctcag ggaggacttg gtgaatttta	60
ttcaagcaaa ttttaagaaa cgagaatgtg tcttctttac caaagattcc aaggccacgc	120
tcaatgaaat ccttctctcc tgtccacacc atcgtgctta tcaggagagaa tgtgtgcaag	180
tgtggctatg cccagagcca gcacatggaa ggcacccaga tcaaccaaag tgagaaatgg	240
aactacaaga aacacaccaa ggaatttctt accgaagcct ttggggatat tcagtttgag	300
acactgggga agaaaggga gtatatacgt ctgtcctgcg acacggacgc ggaaatcctt	360
tacgagctgc tgaccagca ctggcacctg aaaacaccca acctgggtcat ttctgtgacc	420
gggggagcca agaacttcgc cctgaagccg cgcattgcga agatcttcag ccggctcctc	480

tacatcgcg agtccaaagg tgcttggatt etcacgggag gcacccatta tggccgatga	540
agtacatcgg ggaggtgggtg agagataaca ccatcagcag gagttcagag gagaatattg	600
tggccattgg catagcagct tggggcatgg tctccaaccg ggacaccctc atcaggaatt	660
gogatgctga ggtaccgggtg ggacaggagg aggtctgcta ggtracatgg aagaaagacc	720
atggcatggg cctgtggcct gaaccctggg gctctgtgat ggagccagcc agatcatggg	780
gaagtctgcc tttcaaggag tgccttggg accttaaagg aattgaaaac aaggatgacg	840
tacctaatta actgctggga aagagttaac aatgaatgtt ttgttcatta aaatgtgttc	900
tcagcaatct caaaaaaaaa aaaaaaaaaa	929

<210> 7
 <211> 735
 <212> DNA
 <213> homo sapiens
 <400> 7

ttggccttca gagcaaagaa ggagatctgc atctctacac ccagatggag aatcacccctc	60
actttgcagc tgaaggcaat gtggagttga tgttatttta taccatttat ttttattatc	120
tcttcacaac aaacctacta agtcaatgtt atgattccat gctgcaaaca aggaaattaa	180
gcctcagcaa tcttgatatt ctggaacaga acaatccttt aagagatttg gtattgaaga	240
ccttgttgga aatggatcag acattgccca gaccactgac cagacccaac actggaataa	300
cccaggagag ctctgtgctt acctcccatc ggcggtcatt ggtgaaaatc tcatcattgg	360
ctaagtccag ctgggtccac tccagcagaa gcttcagctg cccattccag ttatccttgt	420
cttgctcact ggtgctgaag gctgtgagag ggcaggaaaa gactcaactc accaaaggct	480
cagaaataag agtgagaacc attcagtgtg gccaatatc agagctgttt atcacagatc	540
gtatttgttc ttaaattgga tctaccagaa gaagacagcc agctttcgat actaacaac	600
cacaatggaa gatggcogta tttatcattg cctttagcat gttaaagggt acataccaca	660
ttgacctgg cagaagcatt cctgatgtgt tggaaaaatt aagagaaata acagttcttc	720
ggcaataaaa aaaaa	735

<210> 8
 <211> 84
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 8

Gly Leu Gln Ser Lys Glu Gly Asp Leu His Leu Tyr Thr Gln Met Glu.
 1 5 10 15

Asn His Pro His Phe Ala Ala Glu Gly Asn Val Glu Leu Met Leu Phe
 20 25 30

Tyr Thr Ile Tyr Phe Tyr Tyr Leu Phe Thr Thr Asn Leu Leu Ser Gln
 35 40 45

Cys Tyr Asp Ser Met Leu Gln Thr Arg Lys Leu Ser Leu Ser Asn Pro
 50 55 60

Asp Ile Leu Glu Gln Asn Asn Pro Leu Arg Asp Leu Val Leu Lys Thr
 65 70 75 80

Leu Leu Glu Met

<210> 9

<211> 249

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 9

gtaccggtgg gacaggagga ggtctgctag gtcacatgga agaaagacca tggcatgggc 60

ctgtggcctg aaccctgggg ctctgtgatg gagccagcca gatcatgggg aagtctgcct 120

ttcaaggagt gcctttggga ccttaaagga attgaaaaca aggatgacgt acctaatata 180

ctgctgggaa agagttaaca atgaatgttt tgttcattaa aatgtgttct cagcaaaaaa 240

aaaaaaaaa 249

<210> 10

<211> 115

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

gtacaaacca aggcacataa tcgtgtgtga gtgtgtgtgc cagtgtgtgt acatgcaccc 60

acatatgtgt gctctcatgt aaatgattaa aaagcctgga acttaaaaaa aaaaaa 115

<210> 11

<211> 127

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11
 gtaagcctga cttggctcag atggaaacag cttggaggag gcatttgctc cctgaaccaa 60
 cccccagggc tgccccggag accgcacttc agaagcacgc gcgtgaaacg gagtccaaca 120
 taacaga 127

<210> 12

<211> 571

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gctagaatrt accagtaagc catctgattt cccagtaagc catcctgggc ttttctttgt 60
 tgaaagcttt ttgattgctg attttcattt tcttcatttg ttgtttgtct gttcaggctt 120
 tgtatttctt cttgattcag gtctttgtaa gttgtacatt tctgggatat ttccatttct 180
 tctaggttgt ccaccttggt tgcataata tgttcatact agcccttctt gatcccttct 240
 apttctatgc cctctgttgt aaggttgtct ttttcatttc tgactgtatt tatttgtatc 300
 ttcttcttct tcttaaaagg ttgtttgatt ttgtttatct tttcaaaaaa ccaactctta 360

 ctttcaatga ttttttttcc cattgttttt caactctctt ttttaaaaaa gtattttgct 420
 cttggagttt ttgctctact ttaaacagct tactaaagtc attttactat taacaaatac 480
 aaggctcttt caaaagctcc tataggggaat acaaaatttc cccatctcct tataccagaa 540
 aacaaagtta ttacaatto atcttaagtc t 571

<210> 13

<211> 271

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

acctggctaa tttttgtatt tttagtagac acgggggttc accatgttgg ccaggctggg 60
 ctggaactcc tgacctcagg tgatttgctt gcctcggcct cccaagtgtt gggattacag 120
 gcgtgaacca ccgtgtccgg cctcagggtt tcttaattgc agagcttagt gtgggtatact 180
 ttctgaaggt atctaacagg gaataggggc aaacaaatag ctgcatgctc ctgtcatagt 240
 ccaccagcta tgatctgctt aaaacagctg c 271

<210> 14

<211> 35

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

35

ctgcctttct ccaccagaga ctcttctca gggag

<210> 15

<211> 46

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 15

gctcaatgaa atcttctctt cctgtccaca ccacgtgct tatcag

46

<210> 16

<211> 255

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 16

gtaccgggtgg gacaggagga ggtctgctag gtcacatgga agaaagacca tggcatgggc 60

ctgtggcctg aaccctgggg ctctgtgatg gagccagcca gatcatgggg aagtctgcct 120

ttcaaggagt gcctttggga ccttaaagga attgaaaaca aggatgacgt acctaattaa 180

ctgctgggaa agagttaaca atgaatgttt tgttcattaa aatgtgttct cagcaatctc 240

255

aaaaaaaaaaaa

<210> 17

<211> 128

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

tcaggttttc ttaattgcag agcttagtgt ggtatacttt ctgaagggtat ctaacaggga 60

ataggggcaa acaaatagct gcatgctcct gtcatagtcc accagctatg atctgcttaa 120

aacagctg 128

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.